

平成21年 6月 1日現在

研究種目：若手研究（B）
 研究期間：2006～2008
 課題番号：18700368
 研究課題名（和文） シンタキシン ノックアウトマウスを用いた行動的解析
 研究課題名（英文） Behavioral analysis of syntaxin knockout mice
 研究代表者
 藤原 智徳 (FUJIWARA TOMONORI)
 杏林大学・医学部・講師
 研究者番号：90255399

研究成果の概要：

中枢神経系のシナプス伝達において、シナプス小胞の開口放出が障害されることで、脳の高次機能にどのような影響を与えるか検討するため、開口放出を制御する SNARE 蛋白質の欠損マウスの作成を計画し、それを用いた解析を行った。その結果これらのマウスで顕著な行動障害が見られ、ヒト精神神経疾患に関わる可能性が示唆された。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	1,800,000	0	1,800,000
2007年度	1,000,000	0	1,000,000
2008年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	210,000	3,710,000

研究分野：神経科学

科研費の分科・細目：神経科学・神経化学、神経薬理学

キーワード：SNARE 蛋白質、マウス、行動解析、開口放出

1. 研究開始当初の背景

(1) 脳の高次機能発現の制御にシナプス機能が深く関わることはよく知られている。しかし、プレシナプス機能がどのように関わるかについてはほとんど明らかにされていなかった。

(2) ほとんどの開口放出関連蛋白質の欠損マウスはシナプス伝達が障害され致死であ

ると報告されていた。

(3) シナプスの開口放出を制御するシンタキシン 1A の欠損マウスは顕著なシナプス伝達の障害は見られなかったが、いくつかの行動試験で異常を認めた。

(4) ヒト遺伝子解析の結果から、いくつかの精神神経疾患に開口放出関連蛋白質が関与する可能性が示唆されていた。

2. 研究の目的

開口放出に関連する遺伝子の障害と精神神経症状の関連について明らかにするため、各遺伝子の欠損マウスを用いた行動学的解析を行う。これらのマウスの中でホモ変異体が致死であるものについてはヘテロマウスで異常がないか調べる。また各マウスの表現型に違いがないか、その違いの原因はなにか明らかにする。

3. 研究の方法

(1) シンタキシン1B欠損マウスの作成

①ノックアウトベクターの作成、②組換え ES 細胞の作成、③遺伝子組換えマウスの作成

(2) シンタキシン1B欠損マウスの組織化学的解析

(3) シンタキシン1B欠損マウスの行動解析

①運動機能解析、②ヘテロマウスを用いた解析

(4) シンタキシン1A/1Bダブルノックアウトマウスの作成

(5) SNAP-25欠損マウスの解析

4. 研究成果

(1) シンタキシン1B欠損マウスの作成 2種類のノックアウトベクターを用いて2006～2007年度にかけてキメラマウスの作成を行い、ヘテロ変異体の作出を行った。ヘテロマウスをC57BL6に戻し交配を行い、遺伝的背景を均一にした後に、ホモ変異体の作出を試みた。その結果、ホモ変異マウスは生後14日までに致死となることがわかった。

(2) 出生直後のシンタキシン1Bのホモ変異マウスはシンタキシン1Aの場合と異なり、体が極めて小さかった。また、中枢神経系の組織化学的解析から小脳の組織構造に顕著な異常がみられた。

(3) シンタキシン1Bのホモ変異マウスは

生後7日目での正向反射に顕著な異常がみられ、運動機能障害があることがわかった。また、ヘテロマウスは正常に発達したものの高頻度に痙攣発作を認め、痙攣が誘発されやすいことがわかった。

(4) シンタキシン1A欠損マウスとシンタキシン1B欠損マウスのかけあわせにより両者を欠損したマウスを作成した。このマウスはまったく動けず胎生末期に致死となることがわかった。また、中枢神経の組織構造にも顕著な異常が認められた。

(5) シンタキシン1Bのヘテロマウスの行動解析と同時にSNAP-25欠損マウスを入手し、その行動解析もあわせて行っている。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 4件)

1. Transient silencing of synaptic transmitter release from specific neuronal types by recombinant tetanus toxin light chain fused to antibody variable region.

Kobayashi T, Kai N, Kobayashi K, Fujiwara T, Akagawa K, Onda M, Kobayashi K.

J Neurosci Methods. 2008 177; 125-132

(査読有)

2. Imaging analysis reveals mechanistic differences between first- and second-phase insulin exocytosis.

Ohara-Imaizumi M, Fujiwara T, Nakamichi Y, Okamura T, Akimoto Y, Kawai J, Matsushima S, Kawakami H, Watanabe T, Akagawa K, Nagamatsu S.

J Cell Biol. 2007 May 21; 177(4):695-705

(査読有)

3. Enhancement of synaptic transmission and nociceptive behaviour in

HPC-1/syntaxin 1A knockout mice following peripheral nerve injury.

Takasusuki T. Fujiwara T., et al. *Eur. J. Neurosci.* 26:2179-87 (2007)

(査読有)

4. Analysis of Knock-Out Mice to Determine the Role of HPC-1/Syntaxin 1A in Expressing Synaptic Plasticity

Tomonori Fujiwara, Tatsuya Mishima, Takefumi Kofuji, Tomoki Chiba, Keiji Tanaka, Akitsugu Yamamoto, and Kimio Akagawa

The Journal of Neuroscience, 2006
26(21):5767-5776

(査読有)

[学会発表] (計 9件)

1. T. KOBAYASHI, N. KAI, K. KOBAYASHI, T. FUJIWARA, K. AKAGAWA, M. ONDA, I. PASTAN, K. KOBAYASHI Functional analysis of the striatopallidal neural pathway by conditional transmission silencing Society for Neuroscience. 2008/11/15-19 Washington, DC.

2. Takefumi Kofuji, Tomonori Fujiwara, Masumi Sanada and Kimio Akagawa Impairment of HPA-axis in HPC-1/syntaxin1A knockout mice 日本神経化学会 2008/9/11-13 富山

3. T. KOBAYASHI, N. KAI, K. KOBAYASHI, T. FUJIWARA, K. AKAGAWA, M. ONDA, I. PASTAN, K. KOBAYASHI Functional analysis of the striatopallidal neural pathway by conditional transmission silencing 神経科学会 2008/7/9-11 東京ビックサイト

4. Effects of 5-HT signaling on cultured hippocampal neurons of HPC-1/syntaxin1A knock-out mouse

Tomonori Fujiwara, Takefumi Kofuji, Tatsuya Mishima and Kimio Akagawa

日本生理学会 2008/3/20-22 京王プラザ

5. A case of peripheral nervous system abnormality in HPC-1/syntaxin1A knockout mice

Yuko Kaneko, Rie Suge, Tomonori Fujiwara, Kimio Akagawa and Shu-Ichi Watanabe 日本生理学会 2008/3/20-22 京王プラザ

6. Deletion of HPC-1/syntaxin1A gene causes autistic behavior in mice

Tomonori Fujiwara, Takefumi Kofuji, Tatsuya Mishima, Takeo Yoshikawa and Kimio Akagawa

神経科学会 2007/7/18-19 パシフィコ横浜

7. Autistic-behavior in HPC-1/syntaxin1A knockout mice

Tomonori Fujiwara, Rie Suge, Takefumi Kofuji, Tatsuya Mishima, Akiko Watanabe, Takeo Yoshikawa, Masahiko Nomura and Kimio Akagawa

日本生理学会 2007/3/20-22 大阪

8. HPC-1/syntaxin1A knockout mice exhibit autistic-like behavior.

Takefumi Kofuji, Tomonori Fujiwara, Tatsuya Mishima, Akiko Watanabe, Takeo Yoshikawa and Kimio Akagawa

日本神経化学会 2006/9/14 名古屋

9. Behavioral analysis of HPC-1/syntaxin1A knock-out mouse

Tomonori Fujiwara, Tatsuya Mishima, Takefumi Kofuji and Kimio Akagawa 日本神経科学会 2006/7/19-21 京都

[図書] (計 0件)

なし

〔産業財産権〕

○出願状況（計 0 件）

なし

○取得状況（計 0 件）

なし

〔その他〕

なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

藤原 智徳 (FUJIWARA TOMONORI)

杏林大学・医学部・講師

研究者番号：90255399

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし